TITRES
ET
TRAVAUX SCIENTIFIQUES
DU
DOCTEUR JEAN ETTORI

A Monsieur le Doyen Tiffeneau,
respectueux hommage

[illegible]

TITRES
ET
TRAVAUX SCIENTIFIQUES
DU
DOCTEUR JEAN ETTORI

TITRES
ET
TRAVAUX SCIENTIFIQUES
DU
DOCTEUR JEAN ETTORI

Licencié ès Sciences
Chef des travaux de Chimie biologique et médicale
Chargé des fonctions d'agrégé
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie
de l'Université d'Alger



TITRES
ET
GRADES UNIVERSITAIRES

Baccalauréat Latin-Grec (1916).

— Philosophie (1917).

— Mathématiques (1918).

Certificat d'Etudes P.C.N. (1923).

Licence ès-Sciences (Groupe des Sciences Physiques):

Physique générale (1922).

Chimie générale (1932).

Astronomie (1922).

Doctorat en Médecine (1930).

Agrégation des Facultés de Médecine, 1er degré:

Catégorie G, Chimie (Concours de 1932).

FONCTIONS UNIVERSITAIRES

Délégué dans les fonctions de Chef des travaux de Chimie biologique et médicale (Alger, 1930-1931-1932-1933-1934).

Chargé d'un cours complémentaire de Chimie médicale (Alger, année 1930-1931, deuxième semestre).

Chargé des fonctions d'agrégé avec enseignement, Chimie médicale. (Alger 1931-1936, 1937-1939).

Chef des travaux titulaire de Chimie biologique et médicale (Alger 1934).

SOCIÉTÉS SCIENTIFIQUES

Société de Chimie biologique (1932).

Société de Biologie d'Alger (1936).

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

Contribution à l'étude des manifestations articulaires de l'hérédo-syphilis tardive. (Thèse de Doctorat en médecine, Paris 1930.)

Note sur les calculs d'erreurs dans les notations logarithmiques en pX des solutions. (Archives de Physique biologique et de Chimie physique, t. XI, n° 1, pp. 74-76, 1933.)

Utilité et difficultés du bilan calcique dans l'étude des affections osseuses (avec P. Goinard et R. Grangaud). (Algérie Médicale, 4e sér., n° 97, pp. 1-12, 1936.)

Dosage du titane de l'organisme par extraction et photométrie (avec L.C. Maillard). C. R. Acad. Sc., t. 202, 1936, p. 594.)

Réaction colorée du titane avec l'acide ascorbique et d'autres molécules contenant le groupement — C (OH) = C (OH) —. (C. R. Acad. Sc., t. 202, 1936, p. 852.)

Sur la teneur en titane du corps des Mammifères avec L.C. Maillard). C. R. Acad. Sc., t. 202, 1936, p. 1459.

Répartition du titane dans les organes de l'Homme (avec L.C. Maillard). (C. R. Acad. Sc., t. 202, 1936, p. 1621.

Le titane chez les Mammifères et en particulier chez l'Homme (avec L.C. Maillard). C. R. Soc. Biol., t. CXXII, 1936, p. 951).

Un nouvel élément dans le Corps humain: le Titane (avec L.C. Maillard). (Bull. Acad. Méd., t. 115, 1936, p. 631).

Phénomènes d'autoxydation et de catalyse inorganique dans les conditions d'activité de l'oxydase ascorbique (avec René Grangaud). (C. R. Soc. Biol., t. CXXIV, 937, p. 557).

Notre sur l'élimination du Fer au cours du dosage du Calcium dans les milieux biologiques (avec René Grangaud). (C. R. Soc. Biol., t. CXXVII, 1938, p. 144).

Sur la détermination du Volume globulaire (avec René Grangaud). (C. R. Soc. Biol., t. CXXVII, 1938, p. 532).

Sur la détermination du Volume globulaire: influence des anticoagulants sur le volume globulaire déterminé par photométrie (avec René Grangaud). (C. R. Soc. Biol., t. CXXVIII, 1938, p. 181.)

Essai de raccordement du procédé de l'hématocrite et de la méthode photométrique de détermination du Volume globulaire (avec René Grangaud). (C. R. Soc. Biol., CXXVIII, 1938, p. 191.)

Détermination photométrique du plasma résiduel interposé dans les culots de centrifugation globulaire (avec René Grangaud). (C. R. Soc. Biol., t. CXXVIII, 1938, p. 196.)

Influence de la tension du CO_2 sur le Volume globulaire et nature des combinaisons chimiques de ce gaz dans le sang (avec René Grangaud). (Société de Biologie d'Alger, séance du 15 mars 1939.)

Note de technique sur la détermination du Volume globulaire en présence d'atmosphères variées (avec René Grangaud). (Société de Biologie d'Alger, séance du 15 mars 1939.)

Degré d'oxygénation de l'hémoglobine et influence du CO_2 sur le Volume globulaire (avec René Grangaud). (Société de Biologie d'Alger, séance du 20 avril 1939.)

Influence de la variation de la pression partielle de l'oxygène sur le Volume globulaire à pression de CO_2 constante (avec René Grangaud). (Société de Biologie d'Alger, séance du 20 avril 1939.)

Sur le degré de réversibilité des actions de l'oxygène et du CO_2 dans le sang (avec René Grangaud). (Société de Biologie d'Alger, séance du 20 avril 1939.)

Note sur la loi du rayon dans la centrifugation du sang (avec René Grangaud). (Société de Biologie d'Alger, séance du 20 avril 1939.)

ANALYSE

DES

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

CHAPITRE PREMIER

UN NOUVEL ÉLÉMENT DANS LE CORPS HUMAIN : LE TITANE

Le titre du présent chapitre mérite une explication. Nous n'avons pas la prétention de découvrir le *Titane,* ni sa présence chez les êtres vivants. Nous pensons seulement qu'avant nos recherches, on n'aurait pu se permettre d'affirmer la présence de cet élément *dans le corps humain,* et qu'après nos recherches on en a le droit et le devoir.

Le Titane a été maintes fois signalé chez les êtres vivants, surtout chez les végétaux ; mais en ce qui concerne l'Homme, l'incertitude était complète jusqu'à nos récents travaux.

Sans remonter un siècle en arrière, aux affirmations de Rees (1835) qui prétendait reconnaître le titane dans le sang humain et dans les surrénales, affirmations presque aussitôt contredites par Marchand (1839), on trouve dans la littérature, cinquante ans plus tard, une indication de Ch. Baskerville (1899), que nous nous garderons de passer sous silence, bien qu'elle n'ait pas suffi à déterminer la conviction des savants.

C'est seulement après l'accomplissement de nos recherches que nous avons pu lire le texte original de Ch. Baskerville, paru dans *Jour. Amer. chem. Soc.*, t. *21*, 1899, pp. 1099-1101, sous le titre : « *On the universal distribution of Titanium* ». Il s'agit d'une note assez brève, qui, parmi des considérations sur la très large distribution du titane dans le monde minéral et végétal surtout, contient une phrase dont voici la traduction :

« Les cendres de : viande de bœuf, os de bœuf, » chair humaine, os humain, ont été examinées » dans notre laboratoire, avec les résultats sui- » vants : os de bœuf 0,0195 p. cent, viande de bœuf » 0,013 p. cent, os humain une trace, chair humaine » 0,0325 p. cent d'oxyde titanique. »

Mais il suffit de lire le mémoire consacré au titane des animaux, trente années plus tard, par G. Bertrand et Mme Voronca-Spirt, ou la thèse de celle-ci (1929), pour se rendre compte que cette donnée de Ch. Baskerville n'avait guère réussi à fixer l'opinion scientifique. Peut-être à cause du laconisme de son auteur. Peut-être aussi parce que l'étude d'autres Mammifères, à l'occasion de recherches expérimentales, n'avait permis de rien retrouver de comparable. M. Schoofs (1922) n'a pu trouver Ti dans le foie, la rate, les reins, la vessie, le cœur, le poumon de cobayes qui avaient pendant trente jours ingéré quotidiennement 0 gr. 20 d'oxyde titanique. Et cependant le tube digestif de ces animaux était imprégné de titane à tel point qu'on l'y retrouvait encore plusieurs mois après l'inges-

tion. A plus forte raison, les cobayes neufs ne permettaient-ils de découvrir la moindre trace de Ti.

A son tour, B. Lehmann (1927) administrait Ti O^2 à des chats, pendant 7 mois environ, à raison de 3 grammes par jour. Les cendres de l'estomac et de l'intestin renfermaient en oxyde titanique plus de 47 p. 100 de leur poids ; et malgré cela il était impossible de déceler Ti dans la bile, le foie, les reins, le cœur, la rate, le muscle et l'os. Bien entendu, les chats neufs n'en révélaient pas davantage, non plus que le chien, le lapin et le cobaye.

Que faut-il aujourd'hui penser de l'observation de Baskerville ? Si l'on considère que 0,0325 de Ti O^2 renferment 0,0195 de Ti, et si l'on suppose que les muscles humains traités par cet auteur devaient fournir environ 1 % ou 1,2 % de cendres, on calcule pour la teneur en Ti du muscle frais un chiffre 25 ou 30 fois plus élevé que celui auquel nous arrivons nous-mêmes, aujourd'hui que nous savons doser le titane à 0,1 γ près, par une méthode dont les contrôles excellents permettent confiance en nos résultats. Notre impression actuelle est, il est vrai, que la proportion de Ti dans les organes pourrait être quelque chose de très variable ; mais un écart de 1 à 25 ou 30 ne peut que nous inspirer une réserve compréhensible. Sans nous permettre de repousser l'analyse de Baskerville comme manifestement erronée, nous ne pouvons que conserver à son égard une attitude dubitative.

Dans un ordre d'idées tout à fait différent, le Titane a été encore signalé, dans le corps humain,

à la suite de recherches spectrographiques. Par la méthode des spectres d'arc, MM. DUTOIT et ZBINDEN (*C.R. Ac. Sc.*, *188*, 1929, p. 1.628) ont étudié les cendres du sang humain introduites dans une cavité du charbon de l'arc, et, sans parler de quelques éléments fréquents mais non constants, ont toujours observé 13 éléments dont Ti. Par la même voie spectrographique (*C.R. Ac. Sc.*, *190*, 1930, p. 172) ils ont aussi repéré le titane dans les organes de l'Homme.

Mais la méthode spectrographique appelle certaines réserves. Il y a d'abord possibilité d'erreurs grossières, par lesquelles nous n'insinuerons certes pas que les auteurs cités aient pu se laisser abuser, mais dont il est bon d'être prévenu. Ainsi, il paraît que les charbons d'arc préparés par l'industrie seraient souvent imprégnés volontairement de titane, dont la présence donnerait à la lumière émise des qualités agréables. Même sans addition intentionnelle, Ti est un élément si répandu dans la nature qu'on ne conçoit guère l'usage de l'arc pour sa recherche, sans un contrôle préalable et très sévère des charbons.

Par ailleurs, MM. DUTOIT et ZBINDEN n'omettent pas de rappeler eux-mêmes certains inconvénients de la méthode spectrographique dont « la sensibilité est trop variable d'un élément à l'autre ». « Il sera donc nécessaire, écrivent-ils avec une parfaite loyauté scientifique, de contrôler nos résultats par des analyses quantitatives. » On ne saurait mieux dire.

Enfin, il est très important de remarquer les termes de la phrase consacrée au titane par ces auteurs : « Le *titane* s'accumule dans les poumons et n'existe qu'à l'état de traces dans les autres organes. » Rien ne résumerait mieux la question, s'il s'agissait d'un corps manifestement étranger à l'organisme et n'y trouvant pas place normalement, malgré la fréquence des apports, notamment par les poussières atmosphériques : celles-ci seraient arrêtées par le poumon et les ganglions de son territoire, selon un phénomène bien connu déjà dans le cas du charbon et de la silice.

Aussi, M. Gabriel Bertrand et Mme Voronca-Spirt ont-ils pensé fort judicieusement lorsqu'ils ont tenu à reprendre entièrement la question du titane et à examiner des animaux de divers groupes : Crustacés, Mollusques, Poissons, Oiseaux, Mammifères. Malheureusement, les Mammifères se sont ici montrés comme un objet d'étude particulièrement défavorable, à cause de leur pauvreté en titane. Dans les tableaux publiés au *Bulletin de la Société chimique* (4e s., *47*, 1930, p. 643), des tissus importants (sang, muscles, centres nerveux) figurent comme trop pauvres pour qu'on y puisse déceler l'élément. Dans certains organes (cœur, poumon, rein) du cheval, du veau, du mouton et du porc, Ti est reconnu, mais seulement à la limite même (0 mg 03 pour 100 g. d'organe) au-dessous de laquelle va s'évanouir l'observation. Un seul organe de ces animaux, le foie, montre un ordre de grandeur (0 mg. 06) nettement supérieur à cette limite. Chez certaines espèces même (Lapin), il est

impossible de trouver trace de Ti nulle part, sauf dans les poils, production externe vis-à-vis de laquelle on serait peut-être induit à une certaine réserve, réserve que les auteurs eux-mêmes ont observée envers les plumes d'oiseaux, malgré la haute habileté d'un maître universellement réputé en ce genre de recherches délicates.

De tout ceci, comme des constatations néant de M. Schoofs et de B. Lehmann, résulte qu'il y aurait imprudence à considérer la présence du titane comme établie dans la classe des Mammifères en général. *Quant à l'Homme lui-même, il n'en est nullement question.*

Il y avait ici, dans nos connaissances, une lacune évidente et regrettable. M. le Professeur L.C. Maillard a pensé qu'il ne serait pas impossible de la combler, et a bien voulu, pour cette recherche, accepter ma collaboration, honneur que mon maître n'a pas coutume de prodiguer, et dont je sens d'autant mieux le prix. Je me suis efforcé d'y répondre par une attention soutenue dans les opérations qui m'étaient confiées, entourant de précautions minutieuses autant que multiples ces dosages délicats, fût-ce au prix d'une certaine somme du temps et de labeur. Je crois donc pouvoir dire, en toute conscience, que ces recherches ne péchent ni par défaut de soin, ni par hâte malencontreuse, ni par insuffisance de sévérité dans la critique de chacune des opérations : tel est le seul mérite que je me permettrais de revendiquer en faveur de mon modeste travail.

Ces recherches nous ont permis d'élucider sans la moindre réticence un premier point de l'histoire inconnue du Titane. Cet élément s'est trouvé *présent dans tous les échantillons sans exception* que nous avons pu examiner jusqu'ici, provenant de l'*Homme* ou des *Mammifères*. Pour aboutir à cette constatation, il nous a fallu d'abord *créer une méthode d'extraction toute nouvelle*, qui pourrait ici constituer à elle seule un chapitre spécial de Chimie analytique, mais que cependant nous ne séparerons pas de la découverte même du Titane dans le corps humain parce qu'elle en était la condition primordiale.

Le lecteur est instamment prié de remarquer le titre précis que nous donnons au présent chapitre de notre exposé. Nous nous gardons d'écrire : « Un nouvel élément *du* corps humain ». Ce n'est point par hasard que nous prenons pour titre : « Un nouvel élément *dans le* corps humain ». Le premier libellé risquerait de laisser croire que nous reconnaîtrions, implicitement au moins, et dès aujourd'hui, le Titane comme faisant partie essentielle, régulière et obligatoire de la substance humaine. Or, nous n'en savons rien jusqu'à présent. Nous entendons nous cantonner, jusqu'à plus ample informé, sur le terrain des *faits,* sans nous aventurer dès aujourd'hui sur celui des interprétations. Nous entendons seulement affirmer la présence constante, *dans le* corps humain, d'un élément pour lequel cette constatation régulière n'avait pu encore être obtenue, le *Titane*.

Pour cet élément comme pour d'autres va se poser la difficile question de savoir si sa présence traduit seulement la pénétration banale d'un corps étranger parcimonieusement toléré par l'organisme, ou s'il y joue un rôle spécifique. Du moins, la méthode par laquelle nous avons pu *doser avec précision* le Titane dans tous nos échantillons permet-elle d'aborder numériquement le problème, ouvrant à cette exploration un domaine jusqu'ici fermé, celui de l'Homme et des Mammifères.

Nous espérons donc ne pas outrepasser la portée légitime de nos conclusions, en considérant qu'*un nouvel élément,* le Titane, *prend place désormais parmi ceux dont l'étude est accessible à la Biologie humaine.*

A. — Dosage du Titane au dix-millième de milligramme

MÉTHODE DES CAPTURES

Le seul phénomène que l'on sache actuellement utiliser pour la détermination de très petites quantités de Titane est un phénomène de coloration. Lorsque l'élément a été amené à l'état de sulfate

titanique $(SO^4)^2$ Ti au sein d'une solution contenant un excès assez notable de SO^4H^2, et qu'on ajoute du peroxyde d'hydrogène H^2O^2, on voit apparaître aussitôt une coloration jaune serin dans les milieux très étendus, orangée si la solution est plus concentrée (réaction de SCHÖN, 1871) peu importe ici la constitution du complexe coloré qui prend naissance : l'essentiel est que, en présence d'un excès suffisant de SO^4H^2 et de H^2O^2, l'intensité de coloration est toujours la même pour une même quantité de Ti. A partir de ce minimum de réactifs, la proportion de ceux-ci peut d'ailleurs être augmentée encore dans une mesure très large, sans faire varier la coloration ; cette particularité est précieuse pour la commodité de la mise en pratique. Aussi, cette réaction a-t-elle été employée depuis WELLER (1882), par tous les auteurs qui ont eu à doser de petites quantités de titane. Nous l'adoptons nous-mêmes pour la lecture finale.

Mais pour amener le Titane des organes sous une forme propice à l'action du peroxyde d'hydrogène, deux méthodes peuvent aujourd'hui être employées. Notre méthode, et c'est en ceci que consiste son originalité, part d'un principe tout différent, et pour ainsi dire, inverse de celui qui guidait nos prédécesseurs.

La méthode de nos devanciers, après incinération de l'échantillon biologique et mise des cendres en solution sulfurique, conserve dans cette solution la totalité des produits de la minéralisation, sans avoir jamais tenté d'en isoler le Titane — proba-

blement sans l'avoir jamais osé, crainte sans doute de perdre en chemin des traces d'un ordre aussi infime.

Mais cette méthode ancienne laisse dans la solution le fer, dont la coloration peut être suffisante pour troubler l'appréciation colorimétrique d'une légère réaction jaune. On ajoute donc de l'acide phosphorique (sous forme de phosphate monopotassique) en quantité convenable pour engager le fer dans un complexe incolore.

Mais on sait que l'acide phosphorique a pour fâcheux effet d'affaiblir la coloration jaune de la réaction de Schön. ce qui ferait trouver des chiffres trop bas. Le dosage se faisant par comparaison de la teinte avec celles d'une gamme d'étalons, il devient nécessaire d'ajouter à chacun de ces étalons une proportion d'acide phosphorique égale à celle que contient l'échantillon à mesurer. Mais pour ceci, il ne suffit pas d'avoir noté la quantité de phosphate de K artificiellement introduite, il faut encore savoir combien d'acide phosphorique originel renfermait déjà l'échantillon, c'est-à-dire faire un dosage spécial de phosphore dans une nouvelle prise de l'organe.

La méthode en usage avant nous a donc plusieurs inconvénients :

1° En conservant dans la solution toutes les substances minérales provenant de l'échantillon, et ajoutant encore d'autres substances, on ne peut sous peine de cristallisations gênantes, restreindre le volume au-dessous d'un certain minimum encore

trop copieux (50 cm^3 au laboratoire de M. Gabriel Bertrand, recherches qui sont cependant les meilleures). Or, il est évident qu'en diluant, par exemple, à 50 cm^3 des traces imperceptibles de matière colorante au lieu de les concentrer dans 5 cm^3, on perd une décimale.

2° La méthode perd encore en sensibilité par l'affaiblissement même, sans remède, qu'inflige l'acide phosphorique à la teinte finale.

3° L'intensité de cette coloration finale n'est peut-être pas influencée seulement par l'acide phosphorique, mais peut-être aussi, bien qu'à moindre degré, par d'autres substances parasites. Il n'est donc pas certain que la correction des étalons soit aussi satisfaisante qu'on le désirerait.

Bref, la méthode ancienne oblige à accumuler des causes d'erreur en même temps que des substances étrangères, puis à tenter, sans être bien certain d'une parfaite réussite, de compenser ces erreurs par des corrections de corrections en cascade. En même temps, la réaction fondamentale voit diminuer, dans une mesure non négligeable, sa sensibilité.

Si nous croyons pouvoir indiquer ici les imperfections de la méthode antérieure, c'est pour les avoir apprises à nos dépens. Bien éloignés du moindre parti-pris de critique, nous espérions pouvoir utiliser cette méthode, et nous l'avons d'abord mise en œuvre dans nos propres recherches : nous avons malheureusement perdu un temps assez sérieux jusqu'au jour où nous avons été bien convaincus

de l'impossibilité de pénétrer par cette voie jusqu'au domaine des Mammifères. Cette méthode devait, à notre estimation, faire perdre à la sensibilité de l'analyse au moins deux décimales sur les possibilités véritables, et nous avons décidé de suivre une voie diamétralement opposée.

Au cours d'observations anciennes, M. le Professeur Maillard avait été très frappé du pouvoir remarquable que possèdent des précipités ferriques, de capter, même en milieu extrêmement dilué, les moindres traces de certaines substances. Forts de cette notion expérimentale, et sans avoir à en examiner l'interprétation physico-chimique, nous n'avons pas craint de tenter l'*extraction* des traces de Titane, si minimes soient-elles, que renferment les organes. Ainsi cherchions-nous à les séparer d'emblée, et aussi complètement qu'il se pourrait, de la masse des substances étrangères (énormes par rapport à Ti) qui les emprisonnaient jusqu'à la fin dans la méthode antérieure. Le succès le plus complet est venu justifier notre espoir, que soutenaient les affinités analytiques du titane.

Les cendres d'organe sont dissoutes dans SO^4H^2 d'abord concentré puis ramené à 5 % environ ; on ajoute, si l'échantillon est pauvre en fer, quelques milligrammes de Fe sous forme de sulfate ferrique ; pour un échantillon riche en fer, cette addition ne serait qu'encombrante. Reste à choisir un précipité ferrique favorable aux opérations ultérieures.

Celui que donne la nitrosophénylhydroxylamine

(cupferron) a l'avantage précieux de nous libérer aussitôt de l'acide phosphorique, qui reste dans le liquide si celui-ci, additionné d'acide tartrique, est suffisamment acide (THORNTON, 1914). A la teneur de 5 % cn SO^4H^2, le précipité au cupferron ne peut contenir d'autres métaux que Fe, Zr, Ti, (Cu) : lavé et calciné, il ne laisse d'autres résidus éventuels que $Fe^2 O^3$, ZrO^2, TiO^2, (CuO). Le résidu d'oxydes, redissous dans SO^4H^2, additionné d'acide tartrique, neutralisé par NH^3 et réacidulé par SO^4H^2, est saturé de SH^2 puis alcalinisé par NH^3 : le précipité noir élimine en totalité Fe (ainsi que les traces de Cu que le cupferron aurait pu enlever à un échantillon particulièrement riche), mais laisse Ti dans la solution. Celle-ci, acidifiée par SO^4H^2, débarrassée de SH^2 en excès et du soufre, contient la totalité de Ti.

Il y a lieu de restreindre le volume de l'échantillon ; mais le sulfate d'ammonium qu'il contient en abondance gênerait la concentration, sans parler de l'acide tartrique dont la destruction totale serait indispensable, sous peine de colorations parasites qui interdiraient toute colorimétrie. Nous préférons une deuxième capture du titane, par le zirconium cette fois. Additioné de quelques milligrammes de Zr (sulfate), puis de cupferron, le liquide donne à nouveau un précipité très maniable, dont l'incinération laisse ZrO^2 et TiO^2. Ces oxydes sont dissous dans quelques gouttes de SO^4H^2, qu'on porte dans un petit ballon de 10 cm^3 avec les lavages ; on ajoute 0 cm^3 3 de perhydrol, et l'on complète au trait 10 cm^3.

Deux *captures* successives, l'une au fer, l'autre au zirconium, nous livrent donc dans quelques centimètres cubes de solution sulfurique tout le titane de l'échantillon, sans autre corps étranger qu'un peu de zirconium qui ne trouble pas la réaction de Schön.

Le volume de 10 cm^3 suffit à remplir des tubes que nous avons construits en nous inspirant des tubes de polarimètre, mais en verre de calibre assez modéré pour permettre une longueur de 40 cm. Dans ces tubes, l'œil nu reconnaît directement la teinte jaune serin caractéristique, jusqu'à la dilution de 1 γ de Ti dans 10 cm^3. Rien de plus aisé, par conséquent, que de *voir* la réaction pertitanique jaune sur le titane extrait, par exemple, de 50 g. de muscle frais.

La mesure peut se faire par comparaison avec des tubes semblables chargés d'étalons à teneur connue en Ti et qui encadrent de plus en plus étroitement l'échantillon, jusqu'à égalité. Cependant, l'obligation de préparer extemporanément, pour chacun des échantillons, de multiples étalons, grève assez lourdement le travail.

Nous nous en affranchissons à l'aide du photomètre « graduel » de Pulfrich, qui exprime par un chiffre la transparence d'une colonne liquide, sinon pour une longueur d'onde isolée, du moins pour une région convenablement délimitée du spectre. Une fois pour toutes, avec des étalons de Ti soumis au perhydrol, nous avons construit une table et une courbe de transparence, auxquelles il suffit

maintenant de confronter le chiffre de transparence lu au photomètre pour chaque échantillon. La photométrie à travers un filtre bleu permet ainsi de préciser une décimale de plus, soit 0,1 γ.

Les observateurs exercés peuvent même discerner un quarante-millième de milligramme (0 γ 025), mais à cette dilution l'intrusion d'une poussière dans les solutions sulfuriques fausserait la mesure. Nous nous limitons au dix-millième de milligramme (0 γ 1) : notre méthode est ainsi trois cents fois plus sensible que celle dont on disposait auparavant et dont la limite se situait vers 0 mg 03, soit 30 γ. Quant à l'exactitude, qualité différente de la sensibilité, nos contrôles multiples et variés nous permettent de l'affirmer excellente.

Cest en toute conviction qu'après deux années d'efforts soutenus, souvent déçus, un peu ingrats parfois, nous nous croyons en droit de considérer le problème comme résolu, et d'adopter comme unité courante de mesure, en matière de Titane, le dix-millième milligramme.

Notre *méthode des captures* est aujourd'hui parfaitement réglée dans ses moindres détails. Mais elle apparaît alors d'une telle simplicité, d'une telle facilité, que soudain l'on se sent presque confus d'avoir à présenter une si petite chose.

B. — Le Titane chez les Mammifères

Notre *méthode des captures* pour le dosage du Titane au dix-millième de milligramme étant bien réglée et contrôlée, nous l'avons appliquée à la recherche de cet élément dans divers tissus et organes de certains Mammifères, sans oublier de joindre à cette première enquête quelques échantillons empruntés à l'Homme lui-même.

Réservant pour un examen ultérieur ceux des organes (peau et poils, poumon, tube digestif) que leur communication avec l'extérieur expose à l'intrusion de poussières peut-être titanifères, nous avons étudié d'abord les parties protégées, où apparaîtra mieux l'authenticité biologique du titane trouvé à l'analyse.

Nous avons tenu à prélever de nos propres mains les organes, ne voulant laisser à personne le soin de veiller à ce que cette opération ne pût donner lieu à la moindre souillure par une poussière quelconque. Les sangs d'Homme et de Chien ont été prélevés par ponction veineuse ; ceux du Cheval et du Bœuf ont été recueillis par nous lors de l'abatage des animaux, mais après toilette préalable de la région et dénudation des vaisseaux du cou. Toutes ces prises de sang ont été faites sur oxalate, afin d'assurer l'homogénéité de l'échantillon lors de la pesée d'une prise de 100 grammes.

Pour chacun des organes, nous nous sommes

efforcés d'obtenir une pulpe représentant autant que possible le parenchyme spécifique de l'organe et laissant de côté les formations étrangères : armatures des orifices cardiaques et piliers tendineux des ventricules, capsule et calices du rein, ramifications de la veine porte et canaux biliaires, etc. L'encéphale a été débarrassé, en très majeure partie, des méninges.

Nos résultats sont tous rapportés à 100 grammes de matière fraîche ; c'est d'ailleurs, en fait, sur des prises de 100 g. qu'ont été réalisées la plupart de nos analyses. Ces résultats sont exprimés en millièmes de milligramme (γ) et dixièmes de γ.

Sang total. —	Homme	2,3 γ à 3,1 γ
	Chien	2,2 γ (deux dosages)
	Cheval	2,9 γ
	Bœuf	3,0 γ

Centres nerveux. —	Homme, hémisphères cérébraux...........	1,7 γ
	Chien, encéphale	3,7 γ
	Mouton, encéphale	0,8 γ

Muscle strié. —	Homme	4,4 γ à 8,1 γ
	Chien	1,5 γ (deux dosages)
	Cheval	7,8 γ
	Mouton	8,3 γ

Cœur (myocarde). —	Chien	3,5 γ
	Bœuf	1,5 γ
	Mouton	3,4 γ

Rein (parenchyme). —	Chien	1,7 γ
	Bœuf	3,8 γ
	Mouton	1,6 γ
Foie (parenchyme). —	Chien	2,2 γ (deux dosages)
	Bœuf	2,8 γ
	Mouton	6,8 γ

De ces chiffres, il résulte que :

1° Nous avons reconnu avec certitude et dosé avec précision le Titane dans tous nos échantillons sans exception, *y compris les parties du corps des Mammifères où cet élément n'avait pu être décelé* par la méthode antérieure : sang, muscles, centres nerveux.

2° Ceux des organes où Ti avait été reconnu déjà (cœur, rein, foie) ne sont pas plus riches que les autres, contrairement à ce qu'on aurait pu supposer. Un peu perplexes en cette occasion, nous avons tenu à soumettre encore notre méthode à de nouveaux contrôles, qui n'ont permis de découvrir aucune cause d'erreur. Dans certains cas, nous avons même pu répéter le dosage sur une nouvelle prise du même échantillon : la concordance à 0,1 γ exclut toute faute opératoire. Nos déterminations sont donc bien fondées.

Leur premier caractère est la diversité : le Titane apparaît, *chez les Mammifères*, comme un élément de *présence constante mais proportion irrégulière.*

Cette irrégularité ne nous surprend pas : déjà nos devanciers n'avaient pu trouver trace de Ti

dans le foie du Lapin, pas plus que dans celui d'un oiseau, le Poulet. Cependant, cette dernière espèce n'est pas exempte de titane : nous en mesurons 69 γ dans 100 g. de jaune fourni par 6 œufs de Poule, soit 11,5 γ pour un seul jaune ; le blanc n'en renferme que 3 γ pour 100 grammes.

Il est possible que les chercheurs aient à s'armer de patience, et à réunir un grand nombre de données numériques, avant d'être en mesure d'apprécier si l'on parvient ou non à entrevoir ici quelque loi physiologique.

C. — Le Titane dans les organes de l'Homme

Les recherches qui précèdent établissent d'une manière définitive, à ce qu'il semble bien, la présence constante du Titane dans les divers tissus ou organes de plusieurs espèces de Mammifères considérées collectivement en tant que groupe zoologique.

Ce premier point acquis, nous nous sommes orientés plus particulièrement vers l'étude de l'Homme.

A vrai dire, le groupe des déterminations indiquées plus haut comprenait bien déjà quelques échantillons empruntés à l'espèce humaine. Nous avions choisi pour cela les parties du corps (sang,

muscles, centres nerveux) où l'élément Ti n'avait pu être décelé chez les animaux par nos devanciers, et nous l'avions trouvé dans tous nos échantillons humains :

Sang total	2,3 γ à 3,1 γ
Hémisphères cérébraux	1,7 γ
Muscle strié	4,4 γ à 8,1 γ

Mais nous désirions une première vue d'ensemble sur la *répartition du Titane dans les principaux organes de notre espèce*. Grâce à l'obligeance de M. le Doyen E. Leblanc, professeur d'Anatomie, nous avons pu opérer, dans des conditions convenables de fraîcheur, une série de prélèvements sur un même sujet, homme d'une cinquantaine d'années. Bien entendu, le corps n'avait été soumis à aucune injection conservatrice ou autre manipulation en vue des études anatomiques : la moindre possibilité d'intrusion de substances étrangères nous aurait interdit de l'utiliser.

Voici les chiffres trouvés pour les principaux organes, toujours rapportés à 100 grammes de matière fraîche :

	Ti en γ pour 100 g. de substance fraîche
Muscle strié	8,1
Muscle cardiaque	2,3
Cerveau (hémisphères)	1,7
Cervelet	4,3
Bulbe et moelle......................	1,8

	Ti en γ pour 100 g. de substance fraîche
Tendons (Achille, fléchisseurs)	5,5
Cartilage (costal)	5,0
Peau (région dorsale)	2,4
Intestin grêle	1,7
Foie (parenchyme)	3,0
Pancréas	2,9
Rein (parenchyme)	1,5
Rate	11,0
Moelle osseuse rouge	1,9
Surrénales	10,0
Thyroïde	8,7
Testicules	2,7

Avant de chercher une interprétation quelconque de ces résultats, il convient de se former une opinion sur leur validité. Au paragraphe précédent, consacré à quelques espèces de Mammifères, on a vu que pour des organes tels que foie, rein, cœur, nos chiffres étaient fort inférieurs à l'ordre de grandeur 10 ou 20 fois plus élevé qu'auraient pu laisser prévoir quelques évaluations sommaires faites avant nous par une méthode beaucoup moins fine.

Il en est de même chez l'Homme où ces organes ne dépassent pas la teneur observée chez les autres Mammifères.

Alertés par cette circonstance, nous avons tenu à voir si elle ne serait pas de nature à ébranler la confiance en nos déterminations,

1° La première hypothèse qui s'était présentée à notre esprit était celle d'une perte de titane qui aurait pu entacher nos opérations. Mais on a vu déjà que cette hypothèse ne résiste, ni aux contrôles réitérés et très satisfaisants de ces opérations, ni à la concordance exacte des analyses lorsqu'elles ont pu être faites en double.

2° Nous avons insisté sur ce point que les prélèvements d'organes ont été faits de nos propres mains, en appliquant une attention extrême à éviter toute contamination par la moindre poussière, qui aurait pu, en cas de hasard défavorable, surcharger nos chiffres dans une proportion peut-être ridicule. Des précautions semblables avaient-elles été prises par d'autres auteurs dont « presque tous les échantillons proviennent du commerce » (thèse Voronca-Spirt, p. 51) ? C'est une question que nous ne nous permettrons pas de poser, notre rôle n'étant pas d'examiner les travaux d'autrui, mais seulement de faire l'auto-critique des nôtres.

3° Pour compléter cette auto-critique, nous avons tenu à étudier le point que voici. Les organes en question avaient été, en vue de nos analyses, débarrassés, autant que faire se pouvait, des tendons, aponévroses, membranes, vaisseaux, tractus conjonctifs de caractère banal, pour faire porter le dosage sur un parenchyme aussi spécifique que possible. Nous n'avons rencontré aucune indication nous permettant de savoir si d'autres auteurs avaient fait de même. Dans la négative et s'il se trouvait que les tissus conjonctifs fussent parti-

culièrement riches en titane, leur mélange aux parenchymes d'organes serait de nature à élever notablement la teneur moyenne de l'échantillon analysé.

Nous avons donc pris soin, dans notre dernière série, de recueillir chez l'Homme plusieurs échantillons riches en conjonctif : tendons, cartilage costal, peau. La peau, prélevée dans la région dorsale, avait été soumise à un savonnage très soigné, mais en employant l'eau distillée, pour éviter qu'il se formât quelque grumeau de savon calcaire : un hasard malencontreux, peu vraisemblable mais toujours possible, aurait pu faire qu'un tel grumeau englobât une poussière titanifère et la bloquât dans les pores de la peau.

Rien dans nos résultats (voir le tableau ci-dessus) ne permet d'attribuer aux formations conjonctives une particulière richesse en Ti, susceptible de conduire à des chiffres d'un ordre différent selon que les échantillons auraient été ou non débarrassés de ces formations. Nous ne nous attarderons pas davantage à des tentatives sans doute illusoires pour établir une liaison entre deux échelles de mesure trop distantes pour être raccordées.

L'étude du Titane en Biochimie humaine commence avec notre travail lui-même : le tableau qu'on vient de lire est le premier document de cette histoire et jusqu'ici le seul.

Le Titane est présent *partout dans le corps humain*, mais en proportions très faibles qui, dans les échantillons recueillis jusqu'à présent, se trou-

vent comprises entre 1,5 γ (rein) et 11,0 γ (rate) pour 100 g. de substance fraîche. L'intestin lui-même n'a révélé qu'une teneur extrêmement faible, qu'il est légitime d'attribuer authentiquement à l'organe : nous avions procédé à une détersion attentive de la surface interne, avec de l'eau salée isotonique, par le moyen de petits coups de pissette assez vifs pour fouiller les anfractuosités sans être assez violents pour arracher la muqueuse.

Dans l'interprétation du tableau, il convient d'être prudent. S'il est vrai, par exemple, que c'est la rate qui a donné la proportion la plus élevée, il ne faudrait pas se hâter d'en conclure à un certain parallélisme entre le titane et le fer : cette impression ne serait pas corroborée par les chiffres du sang, du foie, de la moelle rouge des os. Au total, nous préférons ne pas nous aventurer dans le domaine des commentaires, et rester, jusqu'à plus ample documentation, sur le terrain des faits.

Ces faits permettront-ils d'ouvrir en Biologie humaine un paragraphe nouveau, celui du *Titane ?* Ce paragraphe sera-t-il appelé à un certain développement, ou restera-t-il embryonnaire ? L'étude s'en révèlera-t-elle intéressante, ou négligeable comme ne concernant qu'un élément accidentel sans valeur biologique ? Ceci est la question de l'avenir, et nous nous abstiendrons d'anticiper.

CHAPITRE II

RÉACTION NOUVELLE DU TITANE

Emploi de l'acide ascorbique

L'aptitude des molécules énoliques à former avec certains métaux des complexes colorés, s'exalte surtout dans le cas où les deux atomes de carbone unis par la liaison éthylénique sont tous deux porteurs d'un oxhydrile, c'est-à-dire dans le cas où la molécule contient le groupement

$$— C\ (OH) = C\ (OH) —$$

qui pourrait se désigner par le vocable ène-orthodiol, par analogie avec la position ortho chez les dérivés bisubstitués du benzène.

Cette notion m'a suggéré de mettre l'un de ces ène-orthodiols, *l'acide ascorbique,* en présence non plus du fer ou du cuivre, mais du *titane,* élément qui fait dans le laboratoire de M. le Professeur L. C. Maillard l'objet de recherches auxquelles mon maître a bien voulu m'associer.

Le phénomène prévu a été aisément constaté. Il faut dire toutefois que pour donner à la réaction toute son intensité, il convient d'observer certaines conditons, où pH joue un rôle essentiel.

Si, par exemple, on prépare une solution renfermant dans 200 litres 1 molécule-gramme de sulfate titanique en présence d'un grand excès (20 molécules) d'acide ascorbique, et que cette solution soit maintenue riche en SO^4H^2 pour éviter l'hydrolyse de $(SO^4)^2Ti$, on n'observe aucune coloration. On ajoute progressivement de la soude. Lorsque pH est remonté vers 3,0 on voit apparaître une coloration *jaune* d'abord légère, mais qui augmente rapidement et fortement par les additions de soude, passe par un maximum (*brun rouge* intense) vers pH 4,6 puis décroît rapidement et fortement jusque vers pH 5,2 sans toutefois s'annuler entièrement. En zone alcaline, la nuance devient rose pâle. Des essais sont en cours pour rechercher si cette réaction pourrait être appliquée au dosage des traces de titane isolées par la méthode Maillard-Ettori.

Au contraire, si le sel titanique n'est pas en présence d'un grand excès d'acide ascorbique, la légère coloration jaune apparaît bien dès que pH est assez remonté, et tend à s'accentuer, mais aussitôt intervient une précipitation d'hydroxyde titanique avec décoloration du liquide. Ici la substance organique n'était pas en proportion convenable pour protéger le sel titanique contre la décomposition hydrolytique qu'il subit dès que le milieu n'est plus suffisamment acide.

Pour rechercher l'acide ascorbique dans les milieux naturels, il faut donc se garder d'un excès de réactif, dont on emploiera seulement des traces. Dans un tube à essai, on verse 10 cm^3 de jus de

citron, 5 gouttes d'une solution acide de $(SO^4)^2Ti$ renfermant par goutte 5 γ de Ti, puis de la soude jusqu'à effet maximum. La coloration jaune orange paraît brun rouge suivant l'axe du tube.

La coloration est d'une stabilité remarquable : des tubes de citron laissés depuis octobre (5 mois déjà) sans protection contre la luminosité du ciel algérien (lumière diffuse, non pas insolation directe) ne paraissent pas très altérés.

CHAPITRE III

RÉACTION NOUVELLE DE L'ACIDE ASCORBIQUE

Emploi des sels titaniques

Pour épargner au lecteur des répétitons superflues, nous ne nous étendrons pas sur cette réaction, qui n'est que la réciproque de celle dont il a été question à la page précédente.

L'acide ascorbique est aisément décelé par la *coloration jaune orange* ou *brun rouge* (selon la concentration), très intense, qu'il donne avec le titane tétravalent, employé comme nous l'avons fait sous la forme de *sulfate titanique* $(SO^4)^2$ Ti.

Il est nécessaire seulement de se placer dans une zone de pH assez étroitement délimitée aux alentours de pH 4,6. L'intensité de la coloration est, en effet, fortement influencée par les variations de la concentration ionique lorsqu'on s'écarte sensiblement de l'optimum.

D'autre part, il faut avoir soin de n'employer le réactif titanique qu'en proportion extrêmement faible, de façon qu'il ne se trouve pas en excès par rapport à l'acide ascorbique, ce qui créerait des conditions défavorables à la réaction.

Nous avons donné comme exemple le jus frais du citron, sur lequel il est facile d'observer une intense réaction de l'acide ascorbique. Dans un tube à essai, on verse 10 cm^3 de jus de citron, 5 gouttes d'une solution acide de $(SO^4)^2Ti$ renfermant par goutte 5 γ de Ti, puis goutte à goutte de la lessive de soude, tant que la coloration augmente. Cette coloration, jaune orange par observation latérale, paraît brun rouge lorsqu'on regarde suivant l'axe du tube.

Cette réaction nouvelle de l'acide ascorbique (vitamine C) n'a pas la prétention de supplanter les réactions précédemment connues. Néanmoins, il semble qu'elle puisse, en certains cas, leur apporter une confirmation toujours utile et parfois nécessaire. On sait, en effet, que dans certaines de ces réactions peuvent intervenir des propriétés réductrices, non seulement de l'acide ascorbique lui-même, mais aussi de diverses substances étrangères, dont la présence peut obliger à des précautions particulières ou même gêner l'interprétation des faits.

Notre réaction paraît plus spécifique, et peut à ce titre rendre des services : nous poursuivons l'étude de ses conditions d'application.

CHAPITRE IV

ESSAI DE DISCRIMINATION D'UNE FONCTION COMPLEXE ORGANIQUE LA FONCTION ÈNE-ORTHODIOL

La réaction décrite plus haut et qui permet de reconnaître, soit le titane au moyen de l'acide ascorque, soit l'acide ascorbique au moyen du titane tétravalent, n'a pas été rencontré par hasard.

Nous l'avions recherchée de propos délibéré, guidé par une conception que nous suggérait la connaissance de certaines propriétés bien établies des molécules à structure énolique. Il nous semblait plausible que l'aptitude des substances énoliques à former avec certains métaux des complexes colorés, pût s'exalter surtout dans le cas très particulier où les deux atomes de carbone unis par la liaison éthylénique sont tous deux porteurs d'un oxhydrile. La molécule contient alors le groupement — C (OH) = C (OH) — qui pourrait se désigner par le vocable *ène-orthodiol,* par analogie avec la position ortho chez les dérivés bisubstitués du benzène.

Il est remarquable que dans les quelques substan-

ces organiques connues déjà pour donner avec les sels titaniques des colorations intenses, cette structure ène-orthodiolique se retrouve fréquemment, que la molécule soit acyclique comme l'acide dihydroxymaléique, ou cyclique comme le pyrocatéchol, le pyrogallol, l'acide gallique, le tannin. S'il y a ici un phénomène général répondant à quelque loi constitutionnelle, les autres ène-orthodiols doivent donner aussi avec le titane des réactions colorées, et telle est la raison qui nous a conduit à étudier sous ce rapport l'acide ascorbique. On a vu plus haut comment notre prévision s'est réalisée, et quelles sont les conditions à observer pour l'optimum de la réaction.

Nous nous sommes assuré tout d'abord que semblable réaction ne peut s'obtenir avec l'acétylacétate d'éthyle, ni avec l'acide acétylacétique libéré de cet ester : la seule fonction énolique

— C (OH) = CH —

ne suffit donc pas.

En revanche la réaction se retrouve chez les diphénols *ortho :* outre le pyrocatéchol déjà connu, nous l'observons sur l'*adrénaline* et la *dioxyphénylalanine ;* le gaïacol, où l'un des OH est méthylé, ne nous donne pas la réaction, la vanilline non plus. La réaction, connue déjà chez les triphénols comportant une structure ène-orthodiol (pyrogallol, acide gallique, tannin), nous a fait défaut chez les polyphénols non ortho: résorcinol, orcinol, phloroglucinol. S'il est vrai que l'hydroquinol donne une coloration rouge cramoisi, ce n'est que dans SO^4H^2

très concentré, de même que le thymol : ces deux réactions n'ont rien de commun avec celle qui nous occupe. La réaction de l'acide salicylique ne paraît pas non plus comparable.

Avec l'acide ascorbique, les seuls corps actuellement connus, donnant une réaction du même type, sont : l'acide dihydroxymaléique, le pyrocatéchol, l'adrénaline, la dioxyphénylalanine, le pyrogallol, l'acide gallique, le tannin. Tous sans aucune exception sont des ène-orthodiols. La conclusion semble assez nette, et la formation du complexe titanique apparaît comme une propriété générale de la *fonction ène-orthodiol*. Sans attribuer à notre réaction une importance exagérée, peut-être pourra-t-elle contribuer à la recherche de cette fonction en Chimie organique.

CHAPITRE V

UTILITÉ ET DIFFICULTÉS DU BILAN CALCIQUE DANS L'ÉTUDE DES AFFECTIONS OSSEUSES

L'étude du Calcium, quand elle porte sur le *sang,* ne permet pas de se rendre compte de la *fixation* de cet élément par l'organisme. La méthode des bilans, au contraire, est susceptible de renseigner utilement à ce sujet. Nous avons, dans notre mémoire, exposé les difficultés d'exécution et d'interprétation de cette méthode dans le cas du Calcium et indiqué comment nous avons cru devoir opérer pour avoir des bilans corrects.

Nous avons donné à nos sujets une alimentation très voisine de leur régime habituel, pensant qu'une alimentation lactée, si commode soit-elle pour le chimiste, est à rejeter chez l'adulte comme s'écartant trop des habitudes physiologiques de ses organes. Nous avons précisé dans quelles conditions doivent être faites les prises pour analyses sur les aliments cuisinés.

Nous insistons d'autre part sur la nécessité de conserver les excreta répondant à toute la durée

de l'expérience et d'en prélever des échantillons homogènes. Pour les selles, en particulier, nous avons indiqué comment nous avons opéré la délimitation au carmin, toujours malaisée, et suffisamment diminué l'erreur relative sur cette délimitation en portant à huit jours la durée de l'expérience. On conçoit, en effet, l'extrême importance de son exactitude puisque l'organisme élimine le Calcium de façon prépondérante par voie fécale.

Pour obtenir en vue du dosage du Calcium un échantillon moyen des fécès, la totalité de ces matières, expulsées par chaque sujet tout au long de la période des huit jours a été conservée en glacière. C'est cette totalité des excréments qui a été alors desséchée, pesée, pulvérisée, homogénéisée pour la constitution de l'échantillon moyen.

Nous croyons toutes ces précautions opératoires indispensables si l'on veut établir des *bilans* susceptibles d'une interprétation.

Mais même en présence de données analytiques exactes, il est fort *difficile d'interpréter un bilan calcique :* on a constaté, en effet, que lorsque l'apport en Calcium dépasse les besoins de l'organisme, il y a fixation accrue, thésaurisation de cet élément. Comme LANGERON, PAGET et CORDONNIER l'avaient souligné, il est donc nécessaire de tenir compte de ce fait dans l'établissement des bilans.

Dans ce but, nous avons cru bon d'opérer en deux temps : dans une première expérience (durée 3 jours), nous avons déterminé l'ordre de grandeur de l'apport calcique nécessaire à chacun de nos

sujets. Puis, nous avons essayé dans une deuxième expérience (durée 8 jours) de fournir un apport calcique proche des besoins de chacun de ces sujets : un adulte sain, deux adultes atteints d'affections osseuses de gravité différente. Nous avons déterminé, pour chaque sujet, le dernier jour du régime, le Calcium total du sérum par la méthode de Guillaumin, le Phosphore minéral par la méthode de Briggs, la phosphatase du plasma par la méthode de Jenner et Kay.

Or, lorsqu'on examine le résultat de ces dosages relatifs aux constituants sanguins cependant les plus susceptibles de varier lors d'un trouble de la fixation du Calcium, on ne relève dans ces chiffres rien qui permette de se faire une idée de l'étendue de ce trouble.

Les bilans calciques, au contraire, *donnent une fidèle image de la fixation* comparée du Calcium chez les trois sujets. Nous nous étions pourtant abstenus de les choisir atteints d'affections aussi graves que l'ostéomalacie par exemple : il s'agissait, en effet, d'éprouver la finesse de la méthode des bilans pour déceler un trouble de fixation du Calcium, même léger.

Le sujet sain témoin, âgé de 25 ans, mis à un demi-repos pendant les périodes de régime, fixait en moyenne, 0,303 g. de Ca quotidiennement.

Pendant ce temps, avec le même régime, un malade de 35 ans, atteint de gonococcie ancienne, présentant des épines calcanéennes et un rhumatisme vertébral léger ne fixait quotidiennement que

0,261 g. en moyenne. Toujours avec le même régime hypercalcique, un autre malade, beaucoup plus sérieusement atteint, syphilitique, présentant un rhumatisme chronique ankylosant, loin de fixer du Calcium, en perdait quotidiennement 0,045 g. en moyenne. Ces déterminations comparatives sont en rapport très direct avec la gravité de ces affections osseuses révélées par l'observation clinique.

Ainsi espérons-nous avoir montré, outre les difficultés techniques que rencontre l'établissement de bilans corrects, et une partie de leurs difficultés d'interprétation, leur utilité dans l'étude des affections osseuses.

CHAPITRE VI

CALCUL DE L'ERREUR RELATIVE COMMISE SUR LA CONCENTRATION IONIQUE D'UNE SOLUTION LORSQU'ON EMPLOIE LA NOTATION LOGARITHMIQUE pX

Lorsqu'à la suite de Sörensen, la notation de pH commena à s'implanter dans la physico-chimie, bien des travailleurs éprouvèrent des difficultés mentales à s'adapter à la nouvelle notation, et les auteurs se préoccupèrent de ne pas perdre de vue la représentation en concentrations d'ions $H+$ des résultats qu'ils obtenaient directement par l'expérience sous la forme logarithmique (Clark, Legendre, Buchanan et Fulmer, etc.). Cependant, depuis l'introduction des notions d'activité, les choses ont évolué, et l'intérêt s'est en quelque sorte inversé : le pH, variable expérimentale fondamentale des solutions, a pris le devant de la scène, et la concentration en ions $H+$, variable théorique devenue parfois un peu spécieuse, n'a plus gardé qu'un intérêt assez limité.

D'autre part, les avantages de la notation logarithmique l'ont fait étendre à d'autres ions que l'ion $H+$, ou même à des molécules, pour lesquels son rôle de variable expérimentale la mettait aussi

au premier plan (pCl, LOEB ; rH, M. CLARK ; massivité, pX, VLÈS) ; on sait d'ailleurs que les relations explicitées dans les recherches modernes sur la physico-chimie des solutions d'électrolytes (LEWIS, DEBYE, etc.) mettent usuellement en lumière, non plus tant les masses actives X des ions, que des fonctions du type de la racine carrée de ces masses, pour lesquelles la forme logarithmique rend, à un facteur constant près, les représentations plus simples.

Les notations en concentrations elles-mêmes cX sont donc de moins en moins usitées, et n'ont d'ailleurs dintérêt, sauf le cas d'approximations élémentaires, que dans la zone étroite où les concentrations se confondent asymptomatiquement avec les activités.

Néanmoins, il peut être utile, en généralisant le problème, de préciser quelles approximations l'on fait en passant de la notation logarithmique pX à la notation exponentielle cX (activité, concentration) qui lui correspond.

I. Le problème général de l'erreur mise en jeu peut se résumer de la façon suivante :

Connaissant l'erreur absolue α *commise dans une mesure de quantité d'ions X exprimés en pX*, c'est-à-dire :

$$pX_{\text{théorique}} - pX_{\text{mesuré}} = \alpha$$

calculer l'erreur pour cent commise dans la mesure qu'on exprimerait en concentration ionique cX,

L'erreur pour cent de la mesure effectuée exprimée en cX est :

$$\underset{\text{sur cX}}{\triangle\ \%} = \left[\frac{cX_{\text{théor.}} - cX_{\text{mes}}}{cX_{\text{théor.}}} \right] \times 100$$

$$= \left(1 - \frac{cX_{\text{mes}}}{cX_{\text{théor.}}}\right) \times 100$$

Or $$pX_t - pX_m = \alpha$$

$$-\log cX_{\text{théor.}} + \log cX_{\text{mes}} = \alpha = \log \frac{cX_{\text{mes}}}{cX_{\text{théor.}}}$$

ou $$\frac{cX_{\text{mes}}}{cX_{\text{théor.}}} = 10^{\alpha}$$

$$\underset{\text{sur cX}}{\triangle\ \%} = (1 - 10^{\alpha}) \times 100$$

On voit que l'erreur pour cent commise sur cX est indépendante de la valeur propre de cX, ne dépend que de l'erreur sur le pX et *est par conséquent constante si cette erreur sur le pX est d'un ordre constant.*

II. *Calcul numérique de △ %.* — Deux formes de calcul numérique peuvent être employées :

1° *Au moyen des tables de logarithmes.*

$$\underset{\text{sur cX}}{\triangle\ \%} = \left| (1 - 10^{\alpha}) \right| \times 100$$

$$\underset{\text{sur cX}}{\triangle\ \%} = \left| (1 - \text{antilog. } \alpha) \right| \times 100 = (\text{antilog. } \alpha - 1) \times 100$$

2° *En prenant les premiers termes du dévelop-pement en série de antilog. α :*

Posons $10^{\alpha} = e^{\beta}$

On a $\beta = \text{Log. nep. } 10^{\alpha} = \alpha \text{ Ln}10$

Or $e^{\beta} = 1 + \frac{\beta}{1} + \frac{\beta^2}{1.2} + ..$

$$1 - e^{\beta} = (\frac{\beta}{1} + \frac{\beta^2}{1.2} + \frac{\beta^3}{1.2.3.} ....)$$

$$\triangle \% = (1 - e^{\alpha \text{Ln}10}) \times 100$$

$$= (\alpha \text{ Ln}10 + \frac{\alpha^2}{2} (\text{Ln}10)^2 + \frac{\alpha^3}{6} (\text{Ln}10)^3 + ..) \times 100.$$

Comme Ln10 = 2,30 on a, en se limitant aux deux premiers termes, ce qui suffit puisque α est toujours <1 en pratique :

$$\triangle \% = (2.30 \alpha + 2.64 \alpha^2) \times 100$$

III. *Applications de cette formule.* — Il est facile de donner, à titre d'exemple, des applications de cette formule, dans le cas particulier simple où l'ion envisagé est l'ion H+, et où l'on a à comparer l'rreur sur le pH expérimental et celle sur la notion théorique de la concentration cH en ions.

a) Dans la méthode de CULLEN pour la mesure du pH sanguin, l'erreur est de pH ± 0,02.

On a :

$$\triangle \% = (2,30 \times 0,02 + 2,64 \times 0,02^2) \times 100 = 0,046 = 4,6 \text{ soit } 5 \%.$$

Par les antilogarithmes on a, pour la méthode de CULLEN :

$\triangle$%=(antilog. 0,02 — 1) ×100=0,047×100=4,7%, soit 5 %. sur cH

b) Dans la mesure du pH urinaire où l'on opère généralement à pH $\pm$ 0,1 près on a :

$\triangle$ = (2,30×0,1+2,64×0,1²)×100=0,26×100, soit 25 %.

Par les antilogarithmes on a, pour les méthodes usuelles de mesure du pH urinaire pas les indicateurs :

$\triangle$%=(antilog.0,1—1)×100=(1,26—1)×100=26% soit 25%.

TABLE DES MATIÈRES

PAGES

IMP. NORD-AFRICAINE (S. CRESCENZO), 8, R. DROUILLET, ALGER

CHAPITRE VII

RECHERCHES ANALYTIQUES DIVERSES
(Acide ascorbique — Calcium)

Les recherches analytiques qui font l'objet de ce chapitre ont trait au dosage de l'acide ascorbique et à celui du Calcium.

A la suite de l'étude précédemment exposée, d'une réaction colorée de l'acide ascorbique, nous avions été amené à nous intéresser au dosage de ce corps. Une méthode spécifique purement chimique faisant défaut, TAUBER, KLEINER et MISHKIND avaient proposé l'emploi d'un agent d'oxydation spécifique, l'oxydase ascorbique extraite de certaines citrouilles.

Comme tous ceux qui ont manipulé l'acide ascorbique, nous avions été frappé de l'extraordinaire influence des traces de Cuivre sur l'oxydation de cette molécule.

Travaillant avec une eau et des tampons aussi purs que possible, nous avons essayé de déterminer l'importance de l'autoxydation et de l'oxydation catalysée par le Cuivre dans les conditions de concentration en substrat, de température et de temps de la méthode, le pH variant.

Nous sommes arrivé à montrer qu'au pH 6,15

choisi par Tauber et ses collaborateurs, il suffit de 1 γ de Cuivre pour provoquer en 5 minutes à 40° l'oxydation de 65 % du substrat, et que 0,1 γ en oxyde encore 29 %. Ces valeurs témoignent de l'extraordinaire activité catalytique du Cuivre. On voit en même temps quelles précautions devront être prises si l'on veut éviter l'interférence de cet élément dans les déterminations d'activité oxydasique d'un extrait vis-à-vis de la vitamine C.

Une étude, précédemment analysée, sur le métabolisme du Calcium nous avait amené à partager l'opinion de la plupart des auteurs sur le peu de renseignements fournis par le Calcium sérique, en dehors des cas extrêmes, et d'autre part informé sur les difficultés d'établissement et d'interprétation des bilans calciques.

Nous avons alors pensé que l'on pourrait probablement tirer des conclusions du dosage du Calcium globulaire, très variable selon Ch. O. Guillaumin. La difficulté analytique provient ici de la faible teneur des globules en Calcium (sa présence est même mise en doute par certains) et du taux élevé du fer.

Nous avons montré que l'emploi du cupferron permettait de réaliser une technique d'élimination du fer en vue du dosage du Calcium beaucoup plus aisée à régler que la méthode à l'acétate.

Nous avons d'ailleurs à peu près établi aujourd'hui une méthode de dosage du Calcium dans le filtrat obtenu après action du Cupferron sur les cendres de globules et nous avons ainsi pu nous con-

vaincre de la présence du Calcium dans les hématies de l'Homme tout au moins.

Mais au cours de ces études préliminaires au dosage du Calcium globulaire, notre attention fut attirée de façon telle sur la question de la séparation des globules et du plasma et sur celle du volume globulaire que nous décidâmes de suspendre provisoirement nos recherches sur le Calcium globulaire pour entreprendre l'étude expérimentale du système globules-plasma, dont l'exposé va faire l'objet du prochain chapitre.

CHAPITRE VIII

ETUDE DU VOLUME GLOBULAIRE

Le Sang est un système constitué par deux phases, une phase globulaire et une phase plasmatique. Implicitement ou explicitement, la considération du volume globulaire, c'est-à-dire du volume relatif des deux phases, intervient sans cesse dans l'étude chimique ou physico-chimique de ce milieu.

Ayant eu l'intention d'aborder l'étude de certains constituants globulaires, nous n'avons pas tardé à être frappé de l'importance de cette question, qui a fait, de notre part, l'objet d'une série d'études systématiques.

Nous diviserons nos recherches en deux parties: l'une a trait aux problèmes de technique, l'autre, conditionnée par la précédente, concerne le système physico-chimique du sang.

A. — PROBLÈMES TECHNIQUES

La méthode couramment employée pour la détermination du volume globulaire est celle de l'hématocrite, petit centrifugeur muni de tubes divisés en

cent parties égales que l'on charge de sang rendu incoagulable. La lecture de la colonne globulaire obtenue après centrifugation donne directement le volume globulaire en fonction du volume total. Simple dans son principe, la méthode soulève des difficultés dans son application telle qu'on la conçoit habituellement: certains vont jusqu'à lui assigner une erreur relative de 5 %. A moins de modifier profondément la technique de l'hématocrite, la méthode serait donc à rejeter pour la plupart des études dans lesquelles une erreur de cet ordre est inacceptable. Cependant, si l'on examine les reproches adressés à la méthode, on se rend compte qu'ils ont un caractère commun: l'imprécision. C'est que les auteurs, tout au moins dans leurs écrits, ne semblent pas avoir suffisamment compris que la méthode de l'hématocrite est une méthode mécanique, qui comporte trop de facteurs inaccessibles à l'analyse pour pouvoir constituer autre chose qu'une méthode secondaire reposant sur une méthode étalon.

C'est, à notre avis, la vieille méthode de dilution qui peut, à condition de l'élaborer de façon très soigneuse, acquérir ce dernier caractère.

I. — Détermination photométrique du volume globulaire par la méthode de dilution

Le principe de la méthode de dilution est simple. Une quantité mesurée d'une substance inerte est ajoutée à du sang total et à du plasma séparé du

même sang. Le volume relatif du plasma et des globules résultera de la comparaison des concentrations de la substance additionnelle dans le plasma séparé d'emblée et celui qu'on séparera secondairement du sang total. La difficulté est de trouver une substance additionnelle inerte et aisée à doser. C'est à Ponder et Saslow que nous sommes redevables de la substance idéale: l'hémoglobine obtenue par cryohémolyse du sang du sujet, c'est-à-dire sans intervention de substance étrangère.

Pour si remarquable que soit l'idée de Ponder et Saslow, le mode opératoire indiqué par ces auteurs n'est pas satisfaisant. Nous avons donc élaboré une technique fondée sur leur principe, mais que l'on peut néanmoins qualifier de nouvelle en raison des modifications profondes qu'elle présente vis-à-vis de celle de Ponder et Saslow.

Notre technique permet de faire une détermination en double sur dix centimètres cubes de sang en opérant sous huile durant toute le temps du contact globules-plasma. La divergence de deux mesures de volume globulaire sur un même échantillon de sang se révèle ainsi inférieure à 1 %.

Nous sommes arrivés à une erreur aussi faible malgré des prises réduites (Ponder et Saslow opèrent sur trente-cinq centimètres cubes de sang pour une détermination simple) en mesurant les volumes avec la seringue-pipette de Krogh, en substituant à l'hématine acide l'hématine alcaline pour le dosage de l'hémoglobine, en utilisant enfin le photomètre de Pulfrich au lieu du colorimètre.

L'emploi de la seringue-pipette de Krogh à aiguille métallique permet des mesures de volume

parfaites sous l'huile de paraffine, c'est-à-dire en évitant l'aération du sang, qui modifie le volume globulaire.

Au total, l'usage de cette substance osmotiquement inerte en raison de son poids moléculaire élevé, qu'est l'hémoglobine, nous a permis d'élaborer une méthode de détermination du volume globulaire à laquelle nous avons cru pouvoir reconnaître le caractère d'une méthode de référence. Elle nous a permis de résoudre avec sécurité des problèmes relatifs aux anticoagulants, au plasma résiduel des culots de centrifugation globulaire. Elle est malheureusement délicate à mettre en œuvre, même sous la forme définitive que nous lui avons donnée après de longs essais préliminaires. Il était donc tentant, en possession de cette méthode de référence, de voir si les critiques formulées à l'égard de l'hématocrite étaient aussi justifiées que l'opinion le prétend.

II. — Méthode de l'hématocrite stroboscopique

Le raccordement de la méthode de l'hématocrite et de la méthode photométrique suppose comme condition préalable que l'on dispose de sang stabilisé dans sa composition chimique et dépourvu de sédimentation, les deux méthodes étant trop complexes pour permettre une exécution simultanée. Le froid et un dispositif très simple de mise en réserve du sang nous ont permis une conservation correcte de nos prises de sang.

La nécessité nous est bien vite apparue de substituer à la lecture à l'arrêt de l'hématocrite, source d'erreurs multiples, une méthode de lecture continue de la colonne globulaire. Nous avons pour cela construit un hématocrite stroboscopique.

Le principe de cet appareil est simple, bien que sa réalisation nous ait demandé beaucoup de tâtonnements. Un mince disque de laiton, horizontal, percé d'une fente radiale, est disposé sous le tube standard de 50 millimètres monté sur une tête d'hématocrite classique, et se trouve entraîné à la même vitesse que le tube autour d'un axe de rotation vertical. Une seconde fente radiale, celle-ci fixe, et placée au-dessous du disque mobile est violemment éclairée par une lampe à filament rectiligne très brillant. Le tube d'hématocrite illuminé toujours dans la même position par les éclairs qui traversent les deux fentes apparaît immobile à un observateur. Les pointés de la colonne globulaire se font au microscope comparateur. On peut ainsi tracer la courbe du volume occupé par les globules en fonction du temps, c'est-à-dire une véritable courbe de sédimentation accélérée.

Nous avons pu ainsi faire toute une série d'observations sur les relations qui existent entre la vitesse de rotation et celle de sédimentation. Cette dernière s'est révélée avoir un caractère individuel. Par ailleurs, même à des vitesses élevées comme 6.000 tours-minute, l'extrémité du tube se trouvant à 60 millimètres de l'axe, on n'atteint le volume limite que de façon quasi asymptotique. La vitesse de sédimentation baisse énormément vers la fin, et il est naturel qu'un observateur utilisant un héma-

tocrite de façon classique commette des erreurs par excès sur le volume globulaire. Or, même de petites erreurs importent ici, car dans le système physico-chimique du sang, le volume globulaire est une fonction faiblement croissante des autres variables.

Mais la limite observée à l'hématocrite stroboscopique a-t-elle la signification d'un authentique volume globulaire? C'est précisément la détermination photométrique parallèle de ce même volume, méthode exempte des difficultés d'interprétation de la méthode mécanique de l'hématocrite qui apporte la réponse: la concordance des deux méthodes est très satisfaisante, supérieure à 0,5 %. On peut donc dire que les deux méthodes se raccordent. D'autre part, on obtient par cette concordance de deux méthodes de principe totalement différent, bien que poursuivant le même objet, une confirmation logique de la nature de la grandeur mesurée, le volume globulaire.

Il est à remarquer que certains sangs résistent mal, ou même pas du tout, à ces centrifugations prolongées, donnant un court palier correspondant au volume globulaire, ou pas de palier du tout. Seule l'observation stroboscopique continue permet de saisir un palier court. On comprend qu'en utilisant la méthode classique, essentiellement discontinue, certains auteurs aient pu nier l'existence d'une limite dans la centrifugation, ou prétendre que la limite varie avec la vitesse. Notre expérience actuelle, plus étendue que lors de nos premières publications, nous permet de réfuter absolument ce point de vue. Ce qu'il faut, c'est utiliser uniquement des

sangs à globules résistants dans le genre de recherches qui nous occupe.

III. — Problèmes techniques divers relatifs à la séparation des globules et du plasma

En possession des méthodes précédement décrites, nous avons pu aborder certains problèmes techniques, tels que l'influence des anticoagulants sur le volume globulaire, la détermination du plasma interposé dans les culots de centrifugation globulaire, et l'étude de la loi du rayon dans la centrifugation du sang.

Utilisant la méthode photométrique, nous avons pu montrer que les trois anticoagulants, hirudine, héparine, et polyanétholsulfonate de sodium (Liquoïde), donnent les mêmes résultats dans les mesures de volume globulaire, ce qui renforce la conviction qu'ils sont chacun osmotiquement inertes, et autorise à employer le moins coûteux, le polyanétholsulfonate.

Un autre problème, que la méthode des dilutions plasmatiques d'hémoglobine nous a permis d'aborder, est la détermination du plasma résiduel des culots de centrifugation globulaire. Utilisant une centrifugeuse de type courant et des temps de centrifugation classiques dans la détermination des rapports érythroplasmatiques, nous avons donné le moyen de répondre nettement à la question souvent posée à propos des corps à rapoprt érythroplasmatiques bas, tels que le calcium: le corps est-il vrai-

ment présent dans les globules, ou ne s'agit-il pas pas de plasma interposé? C'est ainsi que, dans le cas du Calcium, nous pouvons répondre par l'affirmative.

La méthode de l'hématocrite stroboscopique nous a enfin permis de compléter nos observations sur l'influence de la vitesse de rotation par une étude de la loi du rayon dans la centrifugation du sang. Ayant construit un hématocrite à rayon variable, nous avons pu tracer les courbes de sédimentation pour trois rayons, et, ensuite, celle du temps nécessaire pour atteindre le volume constant en fonction du rayon. L'allure de cette dernière courbe montre que la loi du rayon dans la centrifugation du sang est loin d'être une loi de proportionnalité, et qu'un calcul des temps de centrifugation fondé sur cette base lorsqu'on utilise des appareils de taille différente serait très dangereux.

B. — PROBLÈMES DE BIOCHIMIE LIÉS AU VOLUME GLOBULAIRE

Comme toute théorie, celle de l'équilibre hétérogène qui règne entre les globules et le plasma du sang repose à l'origine sur un certain nombre de constatations expérimentales. Il importe, chaque fois qu'un progrès technique réalisé le permet, de soumettre à une révision ces faits d'observation qui servent de point de départ aux constructions théoriques. Ayant élaboré une méthode de mesure du volume globulaire, que nous estimions suffisamment exacte et sensible pour ces fins, nous avons donc repris les expériences anciennes sur les relations du volume globulaire et de la pression partielle du CO_2.

Les connaissances sur le système hétérogène globules-plasma ont beaucoup progressé depuis les vieilles observations sur le volume globulaire. Grâce à Henderson, à Van Slyke et à leurs écoles, la notion d'un véritable système physico-chimique du sang défini par ses phases et ses constituants s'est développée: l'interdépendance des variables s'est définitivement établie. C'est ainsi qu'à la relation entre le volume globulaire et la pression de CO_2 exprimée par V.G. = f (pCO_2), il faut substituer maintenant la relation: V.G. = f (pCO_2, pO_2). Nous avons donc pris en considération cette variable pO_2 qui, à notre connaissance, n'avait pas fait jusqu'ici l'objet d'une étude expérimentale systématique.

Disons de suite que nos constatations relatives à l'influence du CO_2 et de l'Oxygène sur le volume globulaire s'intègrent bien dans le système physico-chimique du sang. Nous pensons même que cette étude du volume globulaire en fonction des pressions d'Oxygène et de CO_2 constitue une vérification du bien-fondé des conceptions récentes sur les combinaisons des gaz respiratoires dans le sang, comme nous allons le voir en exposant nos résultats.

I. — Influence de la pression partielle du CO_2 sur le volume globulaire et nature des combinaisons chimiques de ce gaz dans le sang

---

C'est dans la constatation de cette influence, avons-nous dit, qu'il faut voir l'une des origines des conceptions modernes sur le système physico-chimique du sang. Un des premiers soins de Spiro et Henderson, lorsqu'ils abordèrent vers 1909 l'étude des équilibres du sang, fut de réaliser un modèle de globule et de plasma permettant de reproduire *in vitro* la variation du volume globulaire sous l'influence du CO_2.

En fait, même si l'on ne s'arrête pas aux déterminations de von Limbeck (auteur de l'observation princeps), qui utilisait pour mesurer le volume globulaire une méthode de dilution et observait des variations de volume de 20 %, on trouve dans la litté-

rature des résultats discordants. Certains, comme Joffe et Poulton, vont même jusqu'à nier toute variation du volume globulaire sous l'influence de pCO_2 entre 19 et 600 mm Hg.

Notre étude critique de la détermination du volume globulaire permet de comprendre les incertitudes relevées chez d'excellents auteurs, qui utilisaient l'hématocrite de façon si défectueuse que Henderson préféra à la détermination directe la solution dangereuse du calcul théorique pour les variations du volume globulaire à partir d'une valeur expérimentale probable.

Pour éviter l'intervention de l'oxygénation de l'hémoglobine qui *a priori* doit modifier les équilibres chimiques qui déterminent le volume globulaire, nous avons d'abord opéré avec des atmosphères de CO_2 et d'hydrogène. Utilisant notre hématocrite stroboscopique, nous sommes arrivés à la conclusion que'ntre 15 et 100 mm Hg, le volume globulaire ne variait pratiquement pas avec la pression de CO_2, et que, même pour des pressions élevées comme 400 mm Hg, la variation était faible, soit 2,8 % entre 100 et 400 mm Hg. Nous verrons qu'au-dessus de 100 mm Hg la membrane doit s'altérer sous l'influence du CO_2, ce qui explique la lenteur de la croissance au-dessus de cette valeur, mais pourquoi cette invariance au-dessous de 100 mm Hg? Il nous semble que c'est dans la nature des combinaisons chimiques du CO_2 qu'il faut chercher l'explication. On sait en effet qu'à côté de la fixation sous forme de bicarbonate par compétition avec les acides pour les bases, une partie, mal déterminée, du CO_2 se fixe directement sur l'hémoglobine: c'est

la carbhémoglobine d'Henriques. Le volume globulaire étant déjà une fonction faiblement croissante de pCO_2, si une partie du CO_2 se fixe encore sous forme d'une combinaison osmotiquement peu active comme la carbhémoglobine, on conçoit que l'on ne puisse plus déceler dans ces conditions une variation sensible du volume globulaire. Il est par ailleurs à noter que l'affinité de l'hémoglobine pour CO_2 est plus forte sous sa forme réduite que sous sa forme oxygénée, et il est enfin assez remarquable que 100 ^{mm} Hg, limite approximative de la zone d'invariance, est aussi la pression pour laquelle la saturation de Hb par CO_2 serait complète.

Cette tentative d'explication mériterait évidemment d'être étayée par des investigations plus approfondies. Mais les difficultés expérimentales d'étude de la carbhémoglobine, et avant tout l'impossibilité où nous étions de travailler en équipe, nous ont fait remettre à plus tard ces recherches ainsi que d'autres dont nous sentons l'intérêt (détermination du pH, de la teneur en hémoglobine, etc...).

Il n'en reste pas moins qu'avec une méthode exacte et sensible de mesure du volume globulaire comme celle de l'hématocrite stroboscopique, nous avons pu établir de façon certaine (des expériences ultérieures à notre première publication nous ont confirmé dans cette opinion) que le volume globulaire est pratiquement indépendant de la pression partielle de CO_2 au-dessous de 100 ^{mm} Hg, contrairement à l'opinion classique.

II. — Degré d'oxygénation de l'hémoglobine et influence du CO_2 sur le volume globulaire

Il est à prévoir que l'oxygénation de l'hémoglobine doit modifier l'action du CO_2 sur le volume globulaire. Il est en effet bien connu que l'acidité de cette molécule augmente lorsqu'elle fixe de l'oxygène, et par ailleurs son affinité pour CO_2 (formation de carbhémoglobine) diminue dans ces conditions. L'équilibre osmotique obtenu, traduit par le volume globulaire, est en fait différent lorsqu'on fait agir CO_2 sur du sang oxygéné.

Cette fois-ci, il n'y a plus d'invariance au-dessous de 100 ^{mm} Hg: le volume globulaire varie au contraire de plus de 3 % dans cet intervalle. Au-dessus, on observe une croissance plus lente due encore à l'altération de la membrane.

On peut remarquer que les résultats observés ici constituent une confirmation *a posteriori* des explications données dans le cas du sang réduit, conformément d'ailleurs à la conception générale de l'interdépendance des variables d'HENDERSON.

III. — Influence de la variation de la pression partielle de l'oxygène sur le volume globulaire à pression de CO_2 constante

Cette interdépendance des variables incitait évidemment à examiner l'action isolée sur le volume globulaire de l'autre variable fondamentale du cycle respiratoire, la pression de l'oxygène, la pres-

sion du CO_2 étant maintenue constante. A notre connaissance, cette étude n'a jamais été faite de façon systématique. Nous l'avons donc entreprise en utilisant les mêmes méthodes que précédemment.

Ici ce n'est plus une augmentation du volume globulaire qui accompagne celle de la pression partielle du gaz. Le volume globulaire est une fonction décroissante de pO_2: il y a une diminution de 2 % environ lorsqu'on passe du sang réduit au sang complètement oxygéné.

Cette constatation n'est pas faite pour nous surprendre. L'oxyhémoglobine étant un acide plus fort que l'hémoglobine, le rôle des tampons plasmatiques va augmenter avec l'oxygénation en même temps que l'affinité de l'hémoglobine pour CO_2 va diminuer du fait de cette oxygénation. Il s'ensuivra une augmentation de la pression osmotique du plasma cette fois-ci, et par suite une migration d'eau des globules vers le plasma. Le nouvel équilibre osmotique se traduira au total, lorsqu'on oxygène le sang, par une diminution du volume globulaire.

Nous avons remarqué sur un échantillon de sang pour lequel nous avons pu déterminer le volume globulaire pour une oxygénation intermédiaire entre le sang réduit et le sang totalement oxygéné que la décroissance du volume globulaire était rapide dans le début de l'intervalle: plus de la moitié de la chute s'observe entre 0 et 25 ^{mm} Hg. Cette allure nous semble refléter la forme en **S** à croissance rapide de la courbe de saturation de l'hémoglobine (courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine) : l'oxy-

génation rapide de Hb entraîne la chute rapide du volume globulaire.

On pourrait répéter maintenant ce que nous avons dit précédemment sur la confirmation mutuelle des résultats observés et l'interdépendance des variables du système physico-chimique du sang constatée expérimentalement ici pour la première fois en ce qui concerne le volume globulaire et la pression de l'oxygène.

IV. — Degré de réversibilité des actions de l'oxygène et du CO_2 dans le sang

Lorsqu'on applique aux systèmes particuliers les lois qui régissent les équilibres chimiques, il faut être assuré que les conditions de réversibilité sont remplies. La réversibilité des actions de O_2 et de CO_2 sur les solutions d'hémoglobine et de bicarbonates a été souvent vérifiée. Il n'en va pas de même pour leur action sur le système hétérogène naturel globules-plasma. La question est cependant d'importance, car avant de raisonner sur les données expérimentales concernant les gaz du sang, il faut être assuré que des équilibres authentiques se réalisent.

Nous avons donc soumis du sang à des cycles où c'était tantôt la pression d'oxygène, tantôt celle du CO_2 qui variait pour revenir en fin de cycle à la valeur initiale, le volume globulaire servant de témoin des variations de pression osmotique parallèles aux réactions chimiques qui se déroulent.

La réversibilité semble assurée en ce qui concerne l'oxygène dans tout l'intervalle où la variation

de pression de ce gaz nous intéresse, c'est-à-dire jusqu'à la saturation de l'hémoglobine. Pour le CO_2 il semble que le domaine de réversibilité ne dépasse pas 100 mm Hg, et l'on comprend du même coup la raison de la croissance ralentie du volume globulaire au-dessus de cette valeur. C'est l'imperméabilisation de la membrane lipidoprotéidique provoquée par la baisse du pH qui empêche la réversibilité: la phase globulaire et la phase plasmatique voient leurs échanges diminuer jusqu'à former en fin de compte deux systèmes indépendants. Il ne faudrait donc pas attribuer à des réactions chimiques à l'intérieur des phases ou à de pseudovariations des coefficients d'activité des constituants ce qui n'est que la conséquence d'une altération de la membrane globulaire.

Il nous semble que les auteurs qui, devant cette fonction faiblement croissante de pCO_2 qu'est le volume globulaire, ont cru bon de pousser leurs déterminations très haut dans l'échelle des pressions, au voisinage de 760 mm Hg parfois, ont omis de se poser cette question préjudicielle de la nature des états qu'ils réalisaient dans le système hétérogène du sang, rendant ainsi leurs déductions ultérieures tout à fait incertaines.

Des recherches sur le volume globulaire qui viennent d'être exposées, il nous semble ressortir que

cette grandeur, assez délaissée du point de vue expérimental par les chimistes qui ont étudié le sang, peut être atteinte et mesurée avec assez d'exactitude pour que l'on puisse utiliser l'osmomètre naturel qu'est le globule rouge dans l'investigation du système physico-chimique hétérogène représenté par le sang.

TABLE DES MATIÈRES